

## **METODOLOGIAS PARA ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE PÓLENES NO AR ATMOSFÉRICO**

METHODOLOGY FOR QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF POLLENS IN ATMOSPHERIC AIR

METODOLOGÍAS PARA ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE PÓLENES EN EL AIRE ATMOSFÉRICO

Pedro Rodrigues (prodrigues@ipg.pt)\*

Inês Lisboa (ines\_cpst@hotmail.com)\*\*

### **RESUMO**

O pólen é uma estrutura biológica produzida nas plantas superiores com semente, vital para a sua reprodução sexuada. Em consequência do processo reprodutivo, os pólenes podem desencadear reações alérgicas na população, tais como inflamação cutânea, conjuntivite, rinite alérgica e outra sintomatologia.

A elaboração de calendários polínicos permite aos clínicos ajustar os tratamentos médicos e possibilita que os pacientes possam adotar medidas profiláticas.

Em Portugal, o acompanhamento da evolução da concentração de pólenes na atmosfera e a sua previsão é realizada, desde 2004, pela Rede Portuguesa de Aerobiologia, a qual difunde um boletim semanal com as previsões polínicas.

Existem inúmeros métodos para o acompanhamento da concentração de pólenes no ar. Na Europa o método desenvolvido por Hirst é o mais utilizado para aplicação clínica, o qual apresenta algumas variantes, as quais pretendemos evidenciar e sistematizar neste trabalho.

**Palavras chave:** *aerobiologia, hirst, pólenes.*

### **ABSTRACT**

Pollen is a biological structure produced in higher plants with seeds that is vital to their sexual reproduction. As a result of the reproductive process, pollen can trigger allergic reactions in people such as skin inflammation, conjunctivitis, and allergic rhinitis, among other symptoms.

The development of pollen calendars allows clinicians to adjust medical treatments and simultaneously enables patients to take preventive actions.

In Portugal, the monitoring of pollen concentration in the atmosphere and its prediction has been carried out, since 2004, by the Portuguese Aerobiology Network, which broadcasts a weekly newsletter with the pollen forecasts.

There are a number of methods for monitoring the evolution of the pollen concentration in the air. In Europe, the Hirst method is the most often used for clinical application and has some variants which will be demonstrated and systematized in this article.

**Keywords:** *aerobiology, hirst method, pollen.*

## RESUMEN

El polen es una estructura biológica producida en las plantas superiores con semillas, vitales para su reproducción sexual. Como resultado del proceso de reproducción, el polen puede desencadenar respuestas alérgicas en la población, tales como inflamación de la piel, conjuntivitis, rinitis y otros síntomas alérgicos.

El desarrollo de los calendarios de polen permite a los médicos ajustar los tratamientos y permite a los pacientes tomar medidas preventivas.

En Portugal, el seguimiento de la evolución de la concentración de polen en la atmósfera y su predicción se lleva a cabo desde 2004 por la Red portuguesa de Aerobiología, que emite un boletín semanal con las previsiones de polen.

Hay numerosos métodos para el control de la concentración de polen en el aire. En Europa, el método desarrollado por Hirst es el más utilizado para la aplicación clínica, que tiene algunas variantes, que tenemos la intención de probar y sistematizar este trabajo.

**Palabras clave:** *aerobiología, hirst, el polen.*

\* Doutorado em Química. Professor Adjunto na Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico da Guarda.

\*\* Mestre em Sistemas Integrados de Gestão [AQS&RS]. Licenciada em Engenharia do Ambiente.

Submitted: 23th July 2015

Accepted: 18th April 2016

## INTRODUÇÃO

O pólen é uma estrutura biológica produzida nas plantas superiores com semente, gimnospermas e angiospermas, vital para a sua reprodução sexuada.

Em consequência do processo de polinização, principalmente no anemófilo, o pólen apresenta-se como um importante constituinte do ar atmosférico, em particular durante a primavera. Tal como muitos gases poluentes, de origem natural ou antropogénica, os pólenes são também muitas vezes designados de “poluentes biológicos”, os quais podem ser inócuos, caso não induzam reações alérgicas (Ribeiro e Abreu, 2014). Contudo, quando o sistema imunitário reage de forma exagerada à sua presença, surge um conjunto de sintomas como inflamação cutânea, rinite alérgica, frequentemente acompanhada de conjuntivite (Sicard *et al.*, 2011). O grau de severidade da alergia está dependente de vários fatores, como por exemplo a vegetação envolvente, as condições climáticas, o nível de urbanização e a sensibilidade dos indivíduos (D’Amato *et al.*, 2007; Peden e Reed, 2010).

Enquanto não se encontram meios eficazes para curar esta patologia e os tratamentos existentes apenas permitem aliviar os sintomas, o desenvolvimento dos estudos aerobiológicos constituem uma ferramenta importante na elaboração de calendários polínicos, os quais permitem conhecer o tipo de pólenes presentes na atmosfera e a sua quantidade, nas diferentes épocas do ano (Scheifinger *et al.*, 2013, Ribeiro e Abreu, 2014). Este conhecimento é útil na medida que permite aos clínicos ajustar os procedimentos e os tratamentos, permitindo aos pacientes adotar medidas profiláticas e planejar as suas atividades ao ar livre. A monitorização dos pólenes pode também contribuir para o planeamento urbano e paisagístico, nomeadamente para uma seleção mais equilibrada das plantas, que permitem contribuir para uma melhor qualidade de vida da população em áreas urbanizadas (Cariñanos e Casares-Porcel, 2011, Ribeiro e Abreu, 2014).

Em Portugal, o acompanhamento da evolução da concentração de pólenes na atmosfera e a sua previsão é, desde 2004, fornecida pela Rede Portuguesa de Aerobiologia (RPA), a qual difunde um boletim semanal com as previsões polínicas ([www.rpaerobiologia.com](http://www.rpaerobiologia.com)). A informação fornecida pode ser utilizada para acompanhar os processos de polinização e correlacionar as concentrações de pólenes com os sintomas alérgicos.

Existem inúmeros métodos para o acompanhamento da evolução da concentração de pólenes no ar. Na Europa, o método desenvolvido por Hirst é o mais frequentemente utilizado pelas diferentes redes aerobiológicas, o qual é também usado no Laboratório de Monitorização e Investigação Ambiental do Instituto Politécnico da Guarda. Esta metodologia apresenta algumas variantes, as quais pretendemos evidenciar e sistematizar neste trabalho.

## **1. METODOLOGIA**

### **1.1. CAPTADOR VOLUMÉTRICO TIPO HIRST**

O equipamento de amostragem de pólenes do ar atmosférico desenvolvido por Hirst (Hirst, 1952) baseia-se na aspiração de um volume conhecido de ar, com projeção das partículas (por exemplo grãos de pólen) sobre uma superfície viscosa. Este sistema de monitorização é amplamente utilizado pelos diversos grupos da *European Aeroallergen Network* (EAN), da qual a RPA faz parte. A sua ampla utilização deve-se a diversos fatores, nomeadamente ao facto de poder ser realizada uma amostragem horária e diária, apresentar uma metodologia de qualificação e quantificação bastante económica e permitir a simulação da inalação humana. Além do mais, o equipamento é de fácil utilização, eficiente e com requisitos mínimos de manutenção. Duas marcas comercializam atualmente captadores de partículas tipo Hirst. O *VPPS 2000* e *VPPS 2010* da Lanzoni (Lanzoni, s.r.l, Itália) e o *Burkard 7 day recording volumetric spore trap* (Burkard Manufacturing Co. Ltd, Reino Unido), que podem realizar a monitorização até uma semana, sem qualquer necessidade de manutenção.

O captador volumétrico tipo Hirst é constituído por três componentes essenciais. Uma bomba de vácuo, situada na parte inferior do equipamento, alimentada com uma corrente de 220 V ou com uma bateria de 12 V, capaz de efetuar a aspiração de um caudal constante de 10 L/min (14,4 m<sup>3</sup>/dia), volume similar ao inalado pelo sistema respiratório humano. A unidade de impacto compreende o bocal, um orifício de 14x2 mm, e um tambor, o qual é revestido por uma fita de poliéster (Melinex®) com uma largura de 19 mm, à qual as partículas aderem, devido à colocação de um meio com propriedades adesivas. Este tambor é colocado à frente do bocal de aspiração e roda a uma velocidade angular de 2 mm/h, ou seja 48 mm por dia, através de um mecanismo de relógio, demorando 7 dias a dar uma volta completa. O mesmo será dizer que o ar aspirado num dia impacta numa superfície de 912 mm<sup>2</sup> (48x19 mm) e que em teoria qualquer partícula presente no ar adere à superfície adesiva; embora, seja sabido que a eficiência é inferior a 100% e esteja dependente não só do tipo de adesivo usado, como também da dimensão da partícula. Atendendo a que o bocal tem uma dimensão de 2x14 mm, na verdade a área útil da superfície de impacto é de apenas 672 mm<sup>2</sup> (48x14 mm).

O equipamento é ainda constituído por um cata-vento que permite que a parte superior do captador se oriente de acordo com a direção do vento dominante, possibilitando que o bocal fique orientado na mesma direção mas, em sentido oposto ao do vento. Possui ainda uma proteção na parte superior que permite o resguardo do bocal da turbulência do vento e da precipitação.

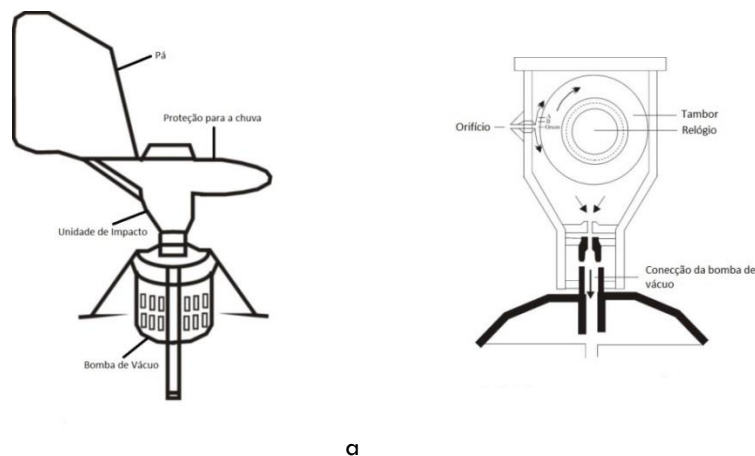


Figura 1 - Esquema do captador volumétrico tipo Hirst (a) e Corte esquemático da unidade de impacto (b) (Adaptado de Soldevilla *et al.*, 2007).

## 1.2. LOCALIZAÇÃO

A escolha do local de amostragem é um aspeto fundamental na análise polínica do ar atmosférico uma vez que pode condicionar o resultado final. Como tal, devem ser tomadas medidas cautelares na escolha do local de monitorização. O captador deve ser colocado numa superfície horizontal de fácil acesso e com condições de fixação do equipamento, tendo o cuidado de evitar a proximidade de fontes potenciais de pólenes ou esporos. Também deve ser escolhido um local em que não existam obstáculos, nomeadamente edifícios de grande dimensão, que perturbem o normal fluxo do ar, assim como é necessário ter atenção à altura do captador ao solo.

A amostragem é efetuada geralmente na cobertura de edifícios (Figura 2a), com uma altura superior às árvores presentes na zona envolvente. Embora não aconselhável, em casos pontuais e numa perspetiva de análise local, a amostragem pode ser efetuada ao nível do solo (Figura 2b). Neste caso, deve-se elevar o captador a pelo menos 1,5 m de altura do solo, de modo a guardar uma distância considerável sobre a vegetação rasteira que se encontra no local. Estudos apontam para uma diminuição da concentração de pólenes no ar com o aumento da altitude e com o aumento da altura de captação (Rodríguez, 2014).

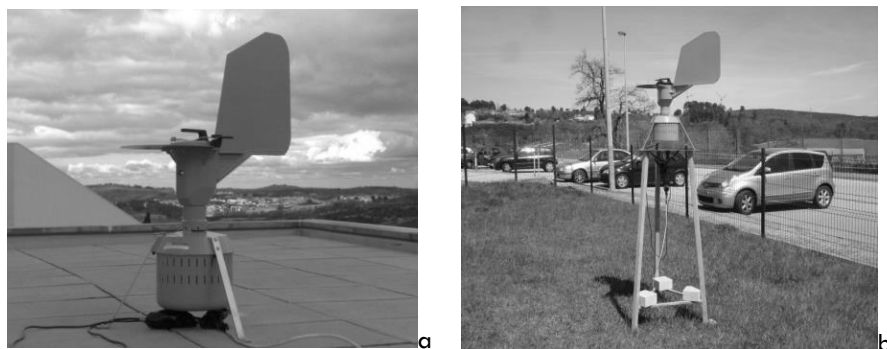


Figura 2 - Exemplo de um captador de pólenes do tipo Hirst colocado num telhado (a) e num suporte a 1,5 m do solo (b) no campus do IPG.

### **1.3. MEIOS DE CAPTURA**

Existem vários meios que podem ser preparados para promover a captura/adesão dos pólenes à fita de Melinex®. Independentemente dos meios escolhidos, existem três características fundamentais que devem ser observadas: estabilidade térmica, higroscopia e compatibilidade com a montagem. O meio também deve ter a capacidade de impedir o crescimento de fungos e bactérias e ser transparente para possibilitar a observação ao microscópio ótico. A solução preparada pode conter um corante que possa facilitar a observação ao microscópio. De acordo com as características climatológicas do local de monitorização, deve-se proceder à escolha do meio adesivo mais adequado, em particular tendo em consideração a amplitude térmica do local. Aqui vamos apenas referir alguns dos meios disponíveis no mercado e que são dos mais usados pelas redes de aerobiologia, nomeadamente o Gelvatol®, o silicone, a vaselina e a glicerina.

#### **1.3.1. Gelvatol**

O meio é preparado pela adição de 35 g de Gelvatol®, 100 ml de água destilada, 50 ml de glicerol e 2 g de fenol. Caso se pretenda, pode ser adicionada fucsina básica como agente corante. Adiciona-se a massa previamente pesada de Gelvatol® à água e deixa-se repousar. Posteriormente adiciona-se o glicerol e aquece-se ligeiramente a solução num agitador magnético. Por fim, adiciona-se o fenol, o qual tem como função impedir o crescimento de fungos e bactérias. Mistura-se a solução até ficar homogénea e coloca-se no frigorífico. A preparação deve ser executada numa câmara de fluxo, devido à toxicidade do fenol.

#### **1.3.2. Silicone/tetracloroeto de carbono (2%)**

A preparação de 1000 ml da solução requer a pesagem de 20 g de fluido ou óleo de silicone (polidimetilsiloxano) e a dissolução em 980 ml de tetracloroeto de carbono. A espessura do filme é inferior a 3 µm e apresenta boas características de adesividade entre os -20 °C e os 150 °C (Galán e Dominguez-Vilches, 1997). Esta solução é recomendada pela Rede de Aerobiologia Espanhola e Italiana e é também recomendada pela marca de equipamentos de monitorização Lanzoni. Uma vez que o tetracloroeto de carbono é uma substância carcinogénica e o seu uso foi proibido, o solvente foi substituído pelo dietil éter (Thibaudon, 2015).

### **1.3.3. Vaselina**

É um meio adesivo muito usado no México. A espessura da superfície adesiva é de 10 a 20  $\mu\text{m}$  e demonstra uma constante de adesividade entre os 20 °C e os 45 °C. A maior desvantagem é a perda de adesividade para temperaturas baixas (Comtois e Mandrioli, 1997) e o facto do meio se tornar mais fluido a partir dos 40 °C (Käpylä, 1989). A mistura é preparada por adição de 9 g de vaselina e 1 g de parafina em 100 ml de tolueno.

### **1.3.4. Glicerina/gelatina**

Este meio é muito usado no Canadá. A espessura do filme é de 100 a 150  $\mu\text{m}$  no momento da sua aplicação e diminui para 20 a 30  $\mu\text{m}$  quando perde grande parte da sua humidade. Tem como principal vantagem a boa qualidade ótica, essencial para a identificação dos pólenes (Comtois e Mandrioli, 1997). Na preparação deste meio são usadas 10 g de gelatina, 70 ml de glicerol, 60 ml de água destilada e 0,25 g de fenol (Käpylä, 1989).

Existem diversos estudos que comparam a eficácia de cada meio de adesão. Embora alguns meios tendam a subestimar a concentração de pólenes, a verdade é que a maioria dos estudos refere que as diferenças não são significativas (Comtois e Mandrioli, 1997; Galfin e Dominguez-Vilch, 1997), e decorrem essencialmente das condições climatéricas, nomeadamente da temperatura e da humidade, que influenciam as características de adesividade do meio. Contudo, apesar das diferenças não serem significativas, o facto de se utilizarem diferentes meios adesivos contribui para o erro associado, especialmente quando se efetuam análises comparativas de concentrações polínicas entre grupos que utilizam meios adesivos diferentes. É também de realçar que sendo a escolha do meio adesivo um elemento facilmente padronizável na técnica, o estabelecimento de um meio padrão poderá contribuir para a diminuição do erro geral associado aos dados aerobiológicos.

## **1.4. MONTAGEM DO TAMBOR**

Para a preparação do tambor, este deve ser colocado no suporte apropriado para o efeito (Figura 3) e limpo com etanol de modo a remover qualquer vestígio de anteriores utilizações. Coloca-se fita-cola dupla entre os dois traços pretos marcados lateralmente no tambor (Figura 4) e coloca-se a fita de Melinex®, de forma a que as extremidades não fiquem sobrepostas. Deve-se alinhar o início da fita com os traços pretos marcados lateralmente no tambor (Figura 4a). Após a colocação da fita, volta-se a limpar a superfície com etanol. Aplica-se o meio previamente preparado (Gelvatol®, por exemplo) em toda a superfície da fita, com a ajuda de um pincel.

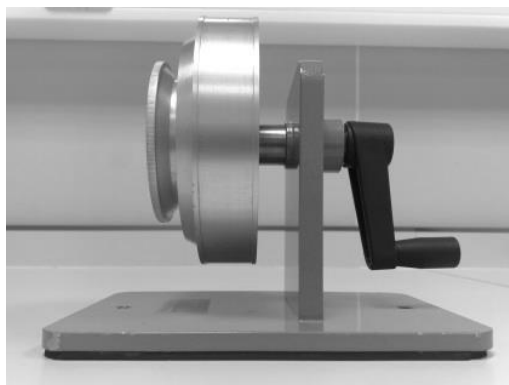


Figura 3 – Suporte para preparação da fita de Melinex® e colocação no tambor.

Posteriormente coloca-se o tambor no mecanismo temporizador, tendo o cuidado de alinhar a ranhura vermelha com a seta (Figura 4b). De seguida, coloca-se a estrutura completa no interior da armadilha. O ajuste do caudal de amostragem deve ser efetuado com um caudalímetro, devendo o mesmo ser regulado, através de um parafuso situado junto ao motor do equipamento, de modo a obter um fluxo de 10 L/min.

Decorridos os 7 dias de amostragem, efetua-se a troca do tambor por outro, previamente preparado em laboratório. O transporte deve ser efetuado dentro de uma caixa transportadora de forma a proteger a fita do meio exterior.

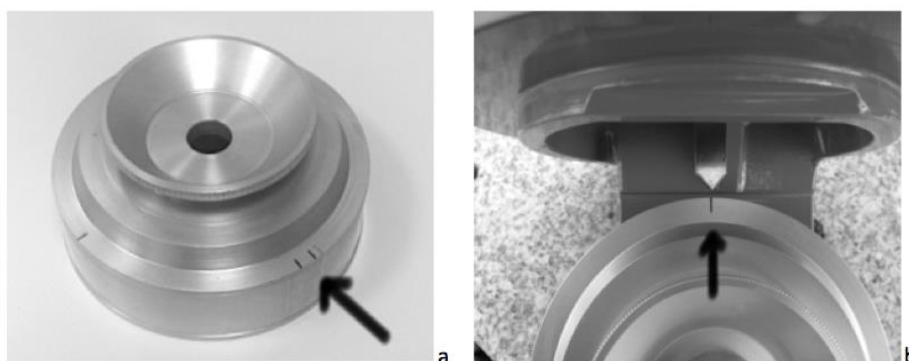


Figura 4 – Marcação no tambor dos traços pretos para a colocação da fita-cola dupla (a) e do traço vermelho para a sua colocação alinhada na armadilha (b).

## 1.5. PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS

Após os 7 dias de amostragem, procede-se à recolha da fita de Melinex® presente no equipamento. Com o auxílio de um pinça, retira-se a fita do tambor tendo em consideração a orientação de início e fim da fita. Coloca-se a fita sobre a régua de corte (Figura 5) fazendo coincidir o início da fita com a ponta do primeiro segmento. Com a utilização de um bisturi, ou



instrumento semelhante, corta-se a fita em segmentos de 48 mm, o que corresponde a um período de 24 horas.

Coloca-se cada um dos segmentos da fita, correspondente a cada um dos dias de amostra, numa lâmina devidamente identificada com a data de recolha. Deve ter-se em atenção que os segmentos da fita devem ser sempre colocados na mesma posição, de forma a garantir uma sequência na contagem. O início da fita deve ficar no lado esquerdo da lâmina. Posteriormente, coloca-se uma fina camada de meio adesivo (Gelvatol®, por exemplo) sobre a lâmina de modo a que a fita de Melinex® adira à lâmina. Também se pode optar por colocar uma gota de água. Posteriormente coloca-se umas gotas do mesmo meio adesivo sobre a fita de Melinex® e a lamela de vidro de 22x50 mm, pressionando-se de forma suave, homogeneizando a camada de solução colocada. Por fim, após a secagem e a selagem da lâmina com verniz transparente, a preparação está pronta para ser observada ao microscópio.

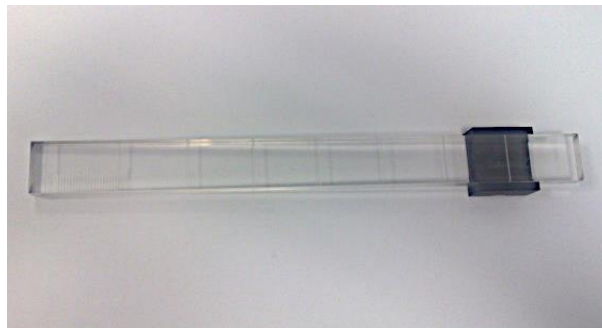


Figura 5 – Régua de corte em acrílico.

## 1.6. CONTAGEM DOS GRÃOS DE PÓLEN

Após a preparação da lâmina para observação ao microscópio é necessário proceder à identificação e contagem do número de grãos de pólen. Para tal é necessário um microscópio com uma ocular de ampliação de 10x e uma objetiva de 40x.

A identificação dos pólenes deve ser feita da forma mais exaustiva possível, agrupando-os em diferentes famílias, géneros ou se possível espécie (Figura 6). Para isso é fundamental ter como base uma palinoteca de referência e atlas de pólenes que ajudem a identificar cada grão de pólen. Quando aparecem pólenes em bom estado, mas para os quais não é possível realizar a identificação taxonómica, estes devem ser registados na categoria de “desconhecido”. Por outro lado, os pólenes que não possam ser identificados devido à sua degradação, destruição ou obstrução devem ser registados como “indeterminados”.

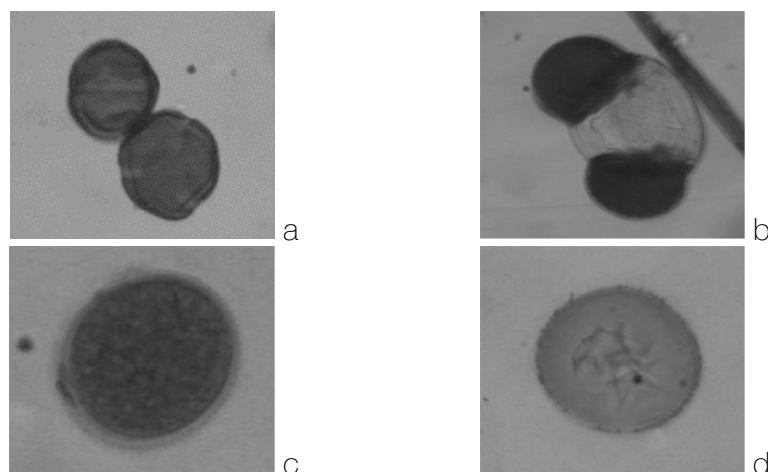


Figura 6 – Imagens exemplificativas de pólenes obtidos com microscópio ótico com ampliação de 400x de Carvalho (a), Pinheiro (b), Gramíneas (c), e Cipreste (d).

Para se obter a contagem total dos pólenes presentes na superfície da fita deveria ser realizada a contagem em toda a superfície da fita. Este procedimento leva a uma maior exatidão no resultado mas, a um consumo elevado de tempo. De modo a reduzir o tempo de contagem, com a menor perda possível de informação, foram propostos diversos métodos de contagem, todos eles baseados na diminuição da superfície analisada e assumindo que os pólenes estão uniformemente distribuídos pela superfície da fita. Essencialmente existem três métodos de contagem: vertical (foi muito usada na Suécia e Estados Unidos da América), horizontal (frequentemente utilizada na Europa central e ilhas britânicas), ou a escolha, aleatória ou sistemática, de campos de visão ao longo da fita, que foi muito utilizada na Finlândia (Käpylä e Penttinen, 1981). Atualmente existe, relativamente a esta questão, um consenso europeu quanto à melhor metodologia de quantificação, sendo a contagem horizontal a metodologia mais usada.

### 1.6.1. Contagem vertical

A leitura vertical efetua-se percorrendo 12 contagens bi-horárias, com início da contagem através da colocação da objetiva no início da fita e depois avançando 2 mm a fim de evitar os desníveis da borda do corte. Posteriormente deve-se avançar na fita, de 4 em 4 mm, a fim de perfazer as 12 contagens (Figura 7). Neste caso, ao analisar os 14 mm de largura da fita, num microscópio com ampliação de 400x, e considerando um diâmetro de campo de 0,45 mm, cada leitura vertical corresponde a uma área de 6,3 mm<sup>2</sup> (0,45 x 14 mm) e equivalente a 0,14 m<sup>3</sup> de ar analisado. Admitindo que são observadas 12 linhas verticais, a área analisada corresponde a 75,6 mm<sup>2</sup> (11,3% do total) e o volume de ar é de 1,7 m<sup>3</sup> (11,8% do total).

Este método possibilita, tal como outros, obter uma concentração média diária, permitindo também a comparação direta com os parâmetros meteorológicos. A contagem em intervalos de 4 mm pode levar à perda de eventos extremos, como picos de concentração, ou pelo contrário concentrações muito baixas. Por outro lado, uma vez que são efetuadas 12 leituras é necessário mais tempo para analisar a lâmina.

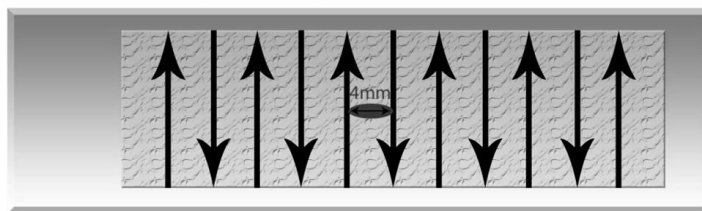


Figura 7 – Esquema de Leitura Vertical.

### 1.6.2. Contagem horizontal

A leitura horizontal efetua-se percorrendo, normalmente, 4 linhas longitudinais separadas por 2 mm (Figura 8). Neste caso, ao analisar os 48 mm da fita, correspondentes às 24 horas, e usando um microscópio com as mesmas características referidas no ponto anterior, cada leitura horizontal corresponde a uma área de  $21,6 \text{ mm}^2$  ( $0,45 \times 48 \text{ mm}$ ) e equivalente a  $0,46 \text{ m}^3$  de ar analisado. Admitindo que são analisadas 4 linhas, a área analisada corresponde a  $86,4 \text{ mm}^2$  (12,9% do total) e o volume de ar é de  $1,8 \text{ m}^3$  (12,8% do total).

Na contagem horizontal, para além da leitura de 4 linhas horizontais marcadas numa folha de acetato, são também marcadas 24 linhas verticais, possibilitando uma contabilização horária, que fornece uma média de 24 horas. Além do mais, este método requer menos tempo na contagem de cada lâmina.

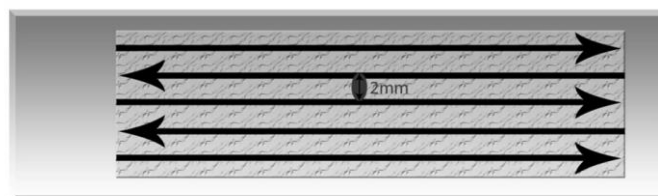


Figura 8 – Esquema de Leitura Horizontal.

## 1.7. CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE PÓLENES

Após a contagem é calculada a concentração de pólenes por  $\text{m}^3$  de ar. Os cálculos a realizar para determinação da concentração de pólenes está dependente do tipo de contagem efetuada: vertical ou horizontal.

### 1.7.1. Contagem vertical

Considerando a área total da fita, igual a ( $48 \text{ mm} \times 14 \text{ mm}$ ), a área total de uma leitura transversal, igual a ( $14 \text{ mm} \times \text{diâmetro de campo}$ ), e a leitura de 12 linhas, a área total é igual a ( $14 \text{ mm} \times$

diâmetro de campo) x 12. Assim, a fração da área total contabilizada neste tipo de contagem é dada pela seguinte relação:

$$\frac{(14 \text{ mm} \times \text{diâmetro de campo}) \times 12}{48 \text{ mm} \times 14 \text{ mm}} \quad (1)$$

Considerando N o número de pólenes contabilizados e um volume total de 14,4 m<sup>3</sup> a concentração de grãos de pólenes/m<sup>3</sup> é dada pela seguinte equação:

$$N \times \frac{48 \text{ mm} \times 14 \text{ mm}}{(14 \text{ mm} \times \text{diâmetro de campo}) \times 12 \times 14,4 \text{ m}^3} \quad (2)$$

De forma simplificada, a concentração pode ser dada pela seguinte expressão:

$$N \times \frac{0,28}{\text{diâmetro de campo}} \quad (3)$$

### 1.7.2. Contagem Horizontal

Tendo em consideração os pressupostos anteriores, com exceção da área total de uma leitura transversal, que é dada por (48 mm x diâmetro de campo), e considerando que se efetua a leitura de 4 linhas, a área total é dada pela relação (48 mm x diâmetro de campo) x 4. A fração da área total contabilizada neste tipo de contagem é igual a:

$$\frac{(48 \text{ mm} \times \text{diâmetro de campo}) \times 4}{48 \text{ mm} \times 14 \text{ mm}} \quad (4)$$

Considerando N o número de pólenes contabilizados nas 4 linhas lidas e um volume total igual a 14,4 m<sup>3</sup>, a concentração de grãos de pólenes/m<sup>3</sup> é dada pela seguinte equação:

$$N \times \frac{48 \text{ mm} \times 14 \text{ mm}}{(48 \text{ mm} \times \text{diâmetro de campo}) \times 4 \times 14,4 \text{ m}^3} \quad (5)$$

De forma simplificada, a concentração pode ser determinada pela expressão:

$$N \times \frac{0,24}{\text{diâmetro de campo}} \quad (6)$$

## CONCLUSÕES

A monitorização qualitativa e quantitativa de pólenes é uma metodologia que nos permite caracterizar e avaliar a qualidade aerobiológica do ar de uma região, de uma cidade ou de um espaço físico limitado. Permite ainda que, do ponto de vista alergológico possam ser desencadeadas previsões polínicas que são de grande utilidade sob o ponto de vista clínico, especialmente para a população mais sensível à presença de pólenes no ar atmosférico.

A monitorização de pólenes está inevitavelmente associada a alguns erros que decorrem da própria metodologia de amostragem, desde logo porque o volume de amostra (14,4 m<sup>3</sup>/dia) é muito reduzido e porque a área exposta a esse volume é também diminuta (672 mm<sup>2</sup>). Mas, erros significativos podem também surgir pela escolha errada da localização para a amostragem, a seleção do meio adesivo para cobrir a superfície da fita ou do modo de contagem dos pólenes. Estas variáveis devem ser ponderadas tendo em consideração os objetivos do estudo, a área geográfica e as condições climáticas da mesma.

Em relação à localização, a existência de barreiras na zona envolvente e de fontes consideráveis de pólenes, devem ser equacionadas, garantindo-se que a captação dos pólenes seja efetuada a uma altura apropriada aos objetivos do estudo. Caso se pretenda uma caracterização global da concentração dos pólenes no ar atmosférico, o equipamento deve estar localizado em zonas mais elevadas, como por exemplo em estudos clínicos. Pelo contrário, se o objetivo é realizar estudos mais localizados, com um raio de ação mais limitado, por exemplo, em parcelas agrícolas, então a recolha pode ser efetuada a alturas mais baixas (entre 1,5 e 2 m).

A escolha do meio de adesão é também um fator importante e que pode influenciar os resultados obtidos. Atendendo às condições climáticas de Portugal e da Guarda em particular, com temperaturas baixas no inverno e elevadas no verão, o meio mais aconselhável é o silicone (utilizado, por exemplo pela rede espanhola de aerobiologia), embora o Gelvatol seja também um meio adesivo capaz de garantir um bom desempenho. Relativamente à metodologia a adotar para a contagem dos pólenes, e apesar da contagem vertical e horizontal apresentarem resultados comparáveis na maioria das situações, na verdade, a contagem horizontal é a mais utilizada na Europa, uma vez que o dispêndio de tempo é menor.

Atendendo às variáveis aqui referidas e tendo em conta a necessidade de comparação de resultados, entre as equipas que trabalham nesta área, seria uma mais valia que as diferentes redes aerobiológicas estabelecessem regras, nomeadamente para o meio de adesão a utilizar, a metodologia de contabilização dos pólenes e a altura a que se realizam as amostragens.

## REFERÊNCIAS

- CARIÑANOS, P., CASARES-PORCEL, M. (2011); "URBAN GREEN ZONES AND RELATED POLLEN ALLERGY: A REVIEW. SOME GUIDELINES FOR DESIGNING SPACES WITH LOW ALLERGY IMPACT"; LANDSCAPE AND URBAN PLANNING, 101, 205-214.  
COMTOIS, P., MANDRIOLI, P. (1997); "POLLEN CAPTURE MEDIA: A COMPARATIVE STUDY"; AEROBIOLOGIA, 13, 149-154.  
D'AMATO, G., CECCHI, L., BONINI, S., NUNES, C., MAESANO, I. A., BEHRENDT, H., LICCARDI, G., POPOV, T., CAUWENBERGE, P. V. (2007); "ALLERGENIC POLLEN AND POLLEN ALLERGY IN EUROPE"; ALLERGY, 62, 976-990.

- GALÁN, C., DOMINGUEZ-VILCHES, E. (1997); "THE CAPTURE MEDIA IN AEROBIOLOGICAL SAMPLING"; *AEROBIOLOGIA*, 13, 155-160.
- GALFIN, C., DOMINGUEZ-VILCH (1997); "THE CAPTURE MEDIA IN AEROBIOLOGICAL SAMPLING"; *AEROBIOLOGIA*, 13, 155-160.
- HIRST, J. M. (1952); "AN AUTOMATIC VOLUMETRIC SPORE TRAP. *ANNALS OF APPLIED BIOLOGY*"; 39, 257-265.
- KÄPYLÄ, M. (1989); "ADHESIVES AND MOUNTING MEDIA IN AEROBIOLOGICAL SAMPLING"; *GRANA* 28, 215-218.
- KÄPYLÄ, M., PENTTINEN, A. (1981); "AN EVALUATION OF THE MICROSCOPICAL COUNTING METHODS OF THE TAPE IN HIRST-BURKARD POLLEN AND SPORE TRAP"; *GRANA*, 20, 131-141.
- PEDEN, D., REED, C. E. (2010); "ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL ALLERGIES"; *JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY*, 125, 150-160.
- RIBEIRO, H., ABREU, I. (2014); "A 10-YEAR SURVEY OF ALLERGENIC AIRBORNE POLLEN IN THE CITY OF PORTO (PORTUGAL)"; *AEROBIOLOGIA*, 30 (3), 333-344.
- RODRIGUEZ, S. F., MOLINA, R. T., MANZANO, J. M. M., PALACIOS, I. S., GARIJO, I. S. (2014); "A COMPARATIVE STUDY ON THE EFFECTS OF ALTITUDE ON DAILY AND HOURLY AIRBORNE POLLEN COUNTS"; *AEROBIOLOGIA*, 30, 257-268.
- SCHEIFINGER, H., BELMONTE, J., BUTERS, J., CELENK, S., DAMIALIS, A., DECHAMP, C., ET AL. (2013); "MONITORING, MODELLING AND FORECASTING OF THE POLLEN SEASON. IN M. SOFIEV & K.-C. BERGMANN (Eds.)"; *ALLERGENIC POLLEN*. NETHERLANDS: SPRINGER.
- SICARD P., LESNE, O., ALEXANDRE, N., MANGIN, A., COLLOMP, R. (2011); "AIR QUALITY TRENDS AND POTENTIAL HEALTH EFFECTS AND DEVELOPMENT OF AN AGGREGATE RISK INDEX"; *ATMOSPHERIC ENVIRONMENT*, 45, 1145-1153.
- SOLDEVILLA, C., GONZÁLEZ, P., TENO, P., VILCHES, E. (2007); "MANUAL DE CALIDAD Y GESTIÓN DE LA RED ESPAÑOLA DE AEROBIOLOGÍA"; CÓRDOBA, SERVICIO DE PUBLICACIONES DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.
- THIBAUDON, M., GALÁN, C., LANZONI, C., MONNIER, S. (2015); "VALIDATION OF A NEW ADHESIVE COATING SOLUTION: COMPARATIVE STUDY OF CARBON TETRACHLORIDE AND DIETHYL ETHER"; *AEROBIOLOGIA*, 31, 57-62.